

Trad. Med. J., January 2013
Vol. 18(1), p 29-34
ISSN : 1410-5918

Submitted : 15-10-2012
Revised : 12-11-2012
Accepted : 25-12-2012

SHOOT CULTURE OF *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis*, *Lindernia ciliata* AND THE EFFORT OF BIOREMEDIATION FOR HEAVY-METAL PB, CR, CD

KULTUR TUNAS *Scoparia dulcis*, *lindernia anagalis*, *Lindernia ciliata* DAN UPAYA BIOREMEDIASI TERHADAP LOGAM BERAT PB, CR, CD

Djoko Santosa*, Nurma Sabila, Irma Puspita Dewi, dan Luthfiana Nurul Aini

Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

ABSTRACT

The research about shoot culture of Scoparia dulcis, Lindernia anagalis, Lindernia ciliata has been done. The aim of this research is to know ability of shoot culture of Scoparia dulcis, Lindernia anagalis, Lindernia ciliata to adsorb heavy-metal Pb, Cr and Cd as bioremediation process for heavy-metal pollutant. Scoparia dulcis, Lindernia anagalis, and Lindernia ciliata shoots are inoculated in Murashige-Skoog (MS) semi-solid medium with added 2 ppm of kinetin as growth factor. Shoots are subcultured at 21 days then they are cultivated in MS semi-solid medium with added heavy-metal Pb, Cr and Cd during 30 days. Scoparia dulcis, Lindernia anagalis, Lindernia ciliata able to adsorb Cr but they can not adsorb Cd. Scoparia dulcis is not able to adsorb Pb.

Key words : bioremediation, shoot culture, Scoparia dulcis, Lindernia anagalis, Lindernia ciliata

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang kultur tunas Scoparia dulcis, Lindernia anagalis, Lindernia ciliata untuk mengetahui kemampuan penyerapan logam berat Pb, Cr dan Cd sebagai proses bioremediasi terhadap polusi logam berat. Tunas-tunas tersebut ditumbuhkan pada media Murashige-Skoog (MS) padat yang ditambah kinetin 2 ppm. Subkultur dilakukan terhadap semua jenis tunas pada umur 21 hari kemudian dikultivasi pada media MS padat ditambah logam berat 0, 2 dan 5 ppm selama 30 hari. Semua tunas mampu menyerap Cr tetapi tidak mampu menyerap Cd, tunas Lindernia anagalis dan Lindernia ciliata mampu menyerap Pb.

Kata kunci : bioremediasi, kultur tunas, Scoparia dulcis, Lindernia anagalis, Lindernia ciliata

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan kekayaan alam yang sangat besar termasuk kekayaan tambang. Menurut Gautama (2007) untuk pertambangan mineral, Indonesia merupakan negara penghasil timah peringkat ke-2, tembaga peringkat ke-3, nikel peringkat ke-4, dan emas peringkat ke-8 dunia. Lokasi pertambangan di Indonesia juga tidak diperhatikan dengan baik setelah lokasi tambang tidak menjanjikan secara ekonomi. Hal inilah yang kemudian menjadi masalah dalam pencemaran lingkungan.

Persoalan pencemaran lingkungan tidak berhenti hanya sampai kepada masalah tambang. Sumber pencemaran lingkungan dapat juga

berasal dari limbah pabrik penyamakan kulit atau bahkan sisa praktikum di sekolah dan perguruan tinggi di Indonesia yang menggunakan bahan kimia termasuk persenyawaan logam berat. Hal ini dapat membahayakan lingkungan sebab dalam UU No. 4/1992 disebutkan bahwa pencemaran lingkungan adalah masuknya/ dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan atau komponen lain ke dalam lingkungan dan atau berubahnya tatanan lingkungan oleh kegiatan manusia atau oleh proses alam sehingga kualitas menurun.

Madjid & Novriani (2009) menyatakan bahwa vesikular arbuskular mikoriza (VAM) dapat terjadi secara alami pada tumbuhan perintis di lahan buangan limbah industri, *tailing* tambang batubara, atau lahan terpolusi lainnya. Beberapa jenis tumbuhan berbatang basah yang dapat bersimbiosis dengan mikoriza antara lain anggota suku Fabaceae seperti kacang tanah yang dapat menyerap krom (Triatmojo, 2000). Tumbuhan

*Corresponding: Djoko Santosa

E-mail : santosadjoko5346@yahoo.co.id

anggota Asteraceae dan Scrophulariaceae termasuk yang dapat bersimbiosis dengan mikoriza. Beberapa jenis tumbuhan anggota suku Scrophulariaceae seperti *Scoparia dulcis*, *Lindernia ciliata* dan *Lindernia anagalis* dapat mudah tumbuh pada berbagai jenis tanah. Ketiga jenis tumbuhan tersebut dapat digunakan sebagai tumbuhan perintis di dalam suatu ekosistem. Selain ketiga suku tumbuhan tersebut, tumbuhan vetiver yang termasuk anggota suku Poaceae dapat berguna untuk menyerap Cr dan Pb (Truong, 2000; Chen, 2004).

Salah satu cara untuk budidaya tumbuhan adalah dengan kultur tunas secara *in vitro*. Jenis-jenis tumbuhan anggota Scrophulariaceae merupakan tumbuhan berbatang basah yang mudah untuk dibudidayakan secara *in vitro* dengan cara kultur tunas (Puspitasari & Santosa, 2003). Dalam penelitian tersebut, penggunaan metode kultur tunas untuk membudidayakan tumbuhan berhabitus terna mempunyai keuntungan, yaitu eksplan lebih cepat tumbuh dalam media Murashige-Skoog + kinetin 2 ppm, analisis kandungan metabolit sekunder dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) yang menunjukkan kesamaan profil KLT antara tanaman hasil kultur tunas *in vitro* dengan tanaman induknya.

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dirumuskan permasalahan apakah limbah Cr, Cd, dan Pb yang dapat diserap oleh tunas *Scoparia dulcis*, *Lindernia ciliata* dan *Lindernia anagalis* secara *in vitro* berdasarkan analisis dengan metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui daya serap tunas *in vitro* untuk *Scoparia dulcis*, *Lindernia ciliata* dan *Lindernia anagalis* terhadap limbah Cr, Cd, dan Pb berdasarkan analisis dengan metode Spektroskopi Serapan Atom (SSA).

METODOLOGI

Bahan

Bahan utama yang dipakai adalah *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis* dan *Lindernia ciliata* diambil dari Kebun TOGA Bagian Biologi Fakultas Farmasi UGM yang diaklimatisasi di *green house*. Bahan-bahan untuk membuat media Murashige-Skoog (Emerck), Agar Bacteriological (Emerck), sublimat, zat pengatur tumbuh (kinetin), etanol 70%, etanol 50%, kertas saring dan *aluminum foil*, bahan-bahan untuk analisis menggunakan Spektroskopi Serapan Atom (SSA).

Alat

Alat-alat untuk kultur *in vitro* seperti *laminar air flow* (LAF: Gelman Science, USA), otoklaf (Sakura, Jepang), neraca timbang (O-

Hauss), peralatan dari gelas, pinset, pisau, gagang pisau, *thermolyne* dengan *magnetic stirrer* dan pH meter, dan seperangkat SSA Analytic Jena contra 300.

Jalannya penelitian

Pembuatan media Murashige-Skoog (MS) padat

Pembuatan media MS padat dengan penambahan zat pengatur tumbuh kinetin 1, 2 dan 3 ppm untuk penumbuhan tunas. Untuk pembuatan 1 liter media dibagi ke dalam 100 botol. Media yang sudah jadi kemudian disterilkan dalam otoklaf (20 menit; tekanan 1,5 atm; suhu 121° C). Selain media juga disiapkan dan dibungkus alat-alat kultur untuk disterilkan bersama-sama dengan media. Dibuat media perlakuan, yaitu MS padat ditambah dengan persenyawaan Cr, Cd, dan Pb pada berbagai konsentrasi.

Sterilisasi eksplan

Tumbuhan *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis* dan *Lindernia ciliata* dipotong-potong menjadi bagian yang lebih kecil (eksplan). Selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 15 menit. Eksplan kemudian disterilkan dalam larutan sublimat (0,03%) selama 15 menit. Dibilas sebanyak 3 kali dengan akuades steril 3, 7 dan 10 menit untuk menghilangkan sisa sterilan.

Induksi tunas

Di dalam cawan petri, setiap eksplan dipotong-potong pada bagian batangnya menjadi bagian yang lebih pendek, semua bagian daun dihilangkan. Potongan batang ditanam di dalam botol kultur yang berisi media MS padat yang telah ditambah 1,2 dan 3 ppm kinetin. Hasil kultur diinkubasi selama 21 hari pada suhu 25° C disinari lampu TL 40 W selama 16 jam/hari.

Subkultur tunas dan kuantifikasi tunas

Subkultur dilakukan dengan memindah tunas-tunas dan memperbanyak tunas pada media perlakuan berupa media MS padat ditambah dengan persenyawaan Cr, Cd, dan Pb. Hal ini disebabkan karena unsur hara dalam media sebelumnya sudah tidak tersedia untuk pertumbuhan tunas. Ketersediaan menurun dengan semakin meningkatnya pertumbuhan tunas atau perubahan pH sebagai akibat terjadinya oksidasi senyawa fenolik dari tunas yang dikeluarkan ke media. Subkultur dilakukan setelah tunas berumur 21 hari. Kuantifikasi tunas-tunas di dalam media perlakuan dilakukan setelah berumur 21 hari. Kuantifikasi dilakukan dengan cara menghitung jumlah tunas yang diproduksi, tinggi masing-masing tunas dan berat basah serta

berat kering tunas. Tunas yang dipanen digunakan untuk analisis serapan limbah dengan metode SSA dan analisis profil kromatogram dengan metode KLT.

Analisis kuantitatif serapan logam oleh tunas *in vitro*

Prinsip analisis ini adalah dengan merefluks tunas yang mengandung Cu, Cr, Cd, dan Pb menggunakan asam klorida diencerkan dan dikabutkan dalam nyala nitrous oxide-acetylene, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer serapan atom (SSA) pada panjang gelombang 357,9 nm.

Spektroskopi Serapan Atom (SSA) dapat digunakan untuk analisis kuantitatif maupun kualitatif. Sebelumnya dilakukan pembuatan kurva standar masing-masing larutan Cr, Cd, dan Pb, yaitu sebanyak 0 mL; 0,125 mL; 0,250 mL; 0,375 mL; 0,500 mL larutan stok diambil menggunakan pipet mikro dan dimasukkan masing-masing ke dalam labu ukur 50 mL. Lalu diencerkan dengan air bebas pH 2, hingga diperoleh deret standar dengan konsentrasi krom 0 µg/mL; 2,5 µg/ mL; 5,0 µg/mL; 7,5 µg/mL; 10 µg/mL. Sebanyak 25 g sampel masing-masing tunas *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis* dan *Lindernia ciliata* didestruksi basah dengan HNO₃ pekat dan dioksidasi dengan H₂O₂. Hasil destruksi di masukan ke dalam labu ukur 100 ml, diencerkan sampai batas dengan akuades dan diukur dengan SSA. Sampel diuji satu per satu ke dalam alat SSA melalui pipa kapiler dan dibaca serapan masuknya. Bila serapan contoh uji lebih besar dari serapan standar tertinggi, perlu diencerkan dahulu.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dan pembahasan ini meliputi data persentase keberhasilan pembuatan media Murashige-Skoog (MS) padat, persentase keberhasilan sterilisasi eksplan, dan jumlah tunas yang dihasilkan, kemampuan tunas menyerap logam berat Pb, Cd dan Cr berdasarkan metode SSA, dan profil kromatogram berdasarkan analisis dengan metode kromatografi lapis tipis.

Pembuatan media MS padat

Media MS yang dibuat 100% dapat digunakan untuk inokulasi eksplan. Media MS disterilisasi dengan otoklaf pada suhu 121° C pada tekanan 1,5 atm selama 30 menit. Media dapat digunakan setelah disimpan dalam ruang steril selama 72 jam. Apabila tidak ditemukan pertumbuhan jamur atau bakteri maka media dapat digunakan untuk inokulasi.

Persentase keberhasilan sterilisasi eksplan

Persentase keberhasilan sterilisasi eksplan ditentukan oleh jenis sterilan dan waktu sterilan serta perlakuan prasterilisasi. Tahap prasterilisasi dilakukan dengan mencuci bersih eksplan batang *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis* dan *Lindernia ciliata*, perendaman dalam sabun cair dan pembilasan dengan air suling steril. Berikut ini hasil persentase keberhasilan sterilisasi eksplan batang *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis* dan *Lindernia ciliata*.

Data tersebut menunjukkan bahwa sterilan yang baik adalah Bayclin® 20 ml/100 ml air suling steril selama 30 menit. Hal ini ditunjukkan dengan tidak terjadinya pencokelatan pada eksplan meskipun masih terjadi kontaminasi sebesar 10-20%. Kontaminasi yang terjadi kemungkinan disebabkan oleh kontaminan internal sebab batang *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis* dan *Lindernia ciliata* merupakan tipe batang yang mempunyai trikoma sehingga memudahkan mikroorganisme secara internal tetap berada di jaringan induk eksplan.

Jumlah tunas yang dihasilkan

Tunas mulai diproduksi oleh eksplan setelah 14 hari di dalam media MS padat ditambah dengan 2 ppm kinetin. Produksi tunas semakin banyak setelah 21 hari eksplan berada di dalam media. Jumlah tunas dan tinggi tunas yang dihasilkan oleh masing-masing eksplan disajikan pada Tabel II.

Jumlah tunas yang dihasilkan sampai umur 21 hari eksplan paling banyak adalah *Lindernia anagalis* sedangkan yang sedikit dihasilkan oleh *Scoparia dulcis*. Hal ini disebabkan oleh tipe habitus *Lindernia* yang berbatang basah sehingga mudah untuk dilakukan proses dediferensiasi. Habitus *Scoparia dulcis* meskipun termasuk tumbuhan berbatang basah tetapi memiliki batang lebih keras. Pada bagian aksilaris jenis *Lindernia* secara alami mudah untuk bercabang-cabang sedangkan *Scoparia dulcis* jumlah tunas terbatas 2-3 cabang.



Gambar 1. Tunas *Lindernia ciliata*

Gambar 1 menunjukkan selama 21 hari telah dihasilkan tunas dari eksplan batang *Lindernia ciliata*. Pada foto tersebut juga tampak bahwa sebelum terbentuk tunas, pada bagian pangkal batang yang bersentuhan dengan media tumbuh kalus. Hal ini menunjukkan bahwa nodus atau buku-buku batang merupakan bagian yang meristematis sehingga mudah untuk dideferensiasikan.



Gambar 2. Tunas *Lindernia anagalis*



Gambar 3. Tunas *Scoparia dulcis*

Gambar 2 adalah tunas *Lindernia anagalis* yang pada umur 21 hari telah dihasilkan 10-15 tunas. Pada foto tersebut juga sudah tampak adanya bagian media yang mulai pecah atau rusak. Hal ini menunjukkan bahwa media sudah berkurang ketersediaan unsur haranya bagi tunas. Oleh karena itu tunas-tunas yang dihasilkan sudah saatnya untuk dilakukan subkultur atau peremajaan pada media yang baru.

Tunas yang dihasilkan oleh eksplan batang *Scoparia dulcis* merupakan jumlah yang paling sedikit tetapi mempunyai ukuran yang lebih tinggi daripada tunas *Lindernia*. Pada Gambar 3 juga tampak bahwa sebagian eksplan sudah mengalami pencokelatan yang disebabkan oleh oksidasi senyawa fenolik. Terjadinya proses ini menunjukkan juga bahwa pada umur 21 hari, tunas-tunas *Scoparia dulcis* sebaiknya untuk dipindah ke media yang baru atau dilakukan subkultur. Oksidasi senyawa fenolik akan menghasilkan senyawa yang

dapat meracuni tunas *invitro*. Subkultur terhadap tunas juga dijadikan cara untuk menyeragamkan umur tunas sebelum diberi perlakuan logam berat.

Subkultur tunas dilakukan pada umur 21 hari, hal ini dilakukan dengan cara memindah tunas-tunas ke dalam media MS padat ditambah 2 ppm kinetin dan perlakuan logam berat persenyawaan Pb, Cr dan Cd pada konsentrasi 0, 2 dan 5 ppm. Setiap tunas ditumbuhkan pada media perlakuan selama 30 hari. Tabel 3 merupakan profil pertumbuhan masing-masing tunas yang diamati setiap 30 botol kultur. Tinggi tunas untuk perlakuan 5 ppm persenyawaan logam Pb menghasilkan tunas dengan ukuran lebih tinggi dibandingkan dengan 0 dan 2 ppm. Parameter lain berupa berat kering juga menunjukkan peningkatan pada kadar 5 ppm. Kemampuan menyerap logam berat seperti Pb pada kadar yang rendah akan memacu adaptasi bagi sel-sel tumbuhan. Diduga dengan masuknya logam Pb akan memacu penyerapan air dan unsur hara dari media. Semakin banyak unsur hara yang diserap maka semakin intensif metabolisme di dalam sel termasuk membentuk protein-protein yang bertanggung jawab terhadap adaptasi terhadap logam. Pada perlakuan lain, yaitu dengan Cr dan Cd juga menunjukkan kecenderungan profil pertumbuhan seperti pada perlakuan Pb.

Berdasarkan Tabel III dan IV maka perlakuan logam berat dengan konsentrasi 5 ppm menghasilkan profil pertumbuhan yang terbaik. Oleh karena itu pada kadar inilah yang kemudian ditetapkan untuk dianalisis tingkat penyerapan logam berat oleh setiap tunas.

Penyerap logam berat oleh tunas *in vitro*

Analisis kemampuan tunas *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis* dan *Lindernia ciliata* terhadap penyerapan logam dilakukan dengan metode spektroskopi serapan atom (SSA), yang dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM. Tabel V menunjukkan bahwa semua jenis tunas mempunyai kemampuan untuk menyerap logam Cr. Tunas *Lindernia anagalis* mempunyai kemampuan penyerapan yang lebih tinggi dibandingkan tunas lainnya. Daya serap terhadap Pb oleh tunas *Lindernia ciliata* lebih tinggi dibandingkan *Lindernia anagalis*. Hal ini berbeda dengan *Scoparia dulcis* yang tidak mempunyai kemampuan dalam menyerap Pb. Meskipun demikian semua jenis tunas tidak mempunyai kemampuan dalam menyerap logam Cd.

Tabel I. Persentase keberhasilan sterilisasi eksplan

Cara sterilisasi	Eksplan batang		
	<i>S. dulcis</i>	<i>L. anagalis</i>	<i>L. ciliata</i>
Bayclin® 10 ml/100 ml (10 menit)	30 %	20 %	20 %
Bayclin® 10 ml/100 ml (20 menit)	50 %	40 %	40 %
Bayclin® 20 ml/100 ml (10 menit)	40 %	30 %	30 %
Bayclin® 20 ml/100 ml (20 menit)	70 %	70 %	70 %
Bayclin® 20 ml/100 ml (30 menit)	90 %	80 %	80 %

Tabel II. Jumlah dan tinggi tunas eksplan umur 21 hari

Parameter	Eksplan batang		
	<i>S. dulcis</i>	<i>L. anagalis</i>	<i>L. ciliata</i>
Jumlah tunas	6-10	12-15	10-15
Tinggi tunas	0,8-1,2 cm	0,4-0,6 cm	0,5-0,6 cm

Tabel III. Tinggi dan berat kering tunas yang dihasilkan untuk perlakuan Pb

Parameter	<i>Scoparia dulcis</i>			<i>Lindernia anagalis</i>			<i>Lindernia ciliata</i>		
	0	2	5	0	2	5	0	2	5
Rerata tinggi (cm)	2,3	3,5	4,1	1,1	2,3	2,5	0,9	2,1	2,8
Berat kering (g)	0,32	0,38	0,51	0,22	0,26	0,31	0,23	0,28	0,34

Tabel IV. Tinggi dan berat kering tunas yang dihasilkan untuk perlakuan Cr dan Cd

Parameter	<i>Scoparia dulcis</i>						<i>Lindernia anagalis</i>						<i>Lindernia ciliata</i>					
	Cr			Cd			Cr			Cd			Cr			Cd		
	0	2	5	0	2	5	0	2	5	0	2	5	0	2	5	0	2	5
Rerata tinggi (cm)	2,1	3,6	4,3	1,9	3,3	4,2	1,1	2,1	2,4	1,2	2,3	2,5	1,0	2,3	2,9	0,9	2,2	2,5
Berat kering (g)	0,3	0,4	0,5	0,3	0,4	0,5	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3	0,2	0,3	0,3

Tabel V. Penyerapan Pb, Cr dan Cd oleh tunas hasil kultur jaringan tanaman

Tunas	Berat sampel (g)	Kadar logam berat (ppm)		
		Pb	Cr	Cd
<i>Scoparia dulcis</i>	0,525	ttd	1,78	ttd
<i>Lindernia anagalis</i>	0,5165	0,23	3,09	ttd
<i>Lindernia ciliata</i>	0,5196	0,25	2,89	ttd

Keterangan : ttd = tidak terdeteksi

Menurut Taiz dan Zieger (2002), tumbuhan mampu menghasilkan fitokelatin dan metalotionin sebagai cara untuk mempertahankan diri ketika sel-sel tumbuhan berada pada cekaman logam berat. Fitokelatin adalah polipeptida yang berikatan dengan logam. Ekspresi genetik untuk menghasilkan enzim fitokelatin sintase diperlukan sebagai upaya untuk membentuk fitokelatin ketika tumbuhan berada pada cekaman logam berat. Fitokelatin terakumulasi di dalam vakuola sel-sel tumbuhan sebagai indikator dari cekaman logam berat.

Tumbuhan juga mempunyai gen-gen yang mengkode pembentukan metalotionin seperti

halnya pada sel-sel hewan. Pada jenis *Arabidopsis* sp. (Brassicaceae) ditemukan ada 3 tipe gen metalotionin yang terdapat pada jaringan vegetatif, yaitu akar, batang dan daun. MT1, MT2 dan MT3 dan diekspresi salah satunya MT2 yang berhubungan dengan toleransi terhadap Cu. Metalotionin berguna untuk mempertahankan sel dari proses kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh logam berat termasuk di dalamnya kerusakan gen-gen dan oksidasi protein berikatan dengan sulfur. Meskipun demikian pengaturan toleransi sel-sel terhadap cekaman logam berat masih terus dikembangkan sampai dengan saat ini (Taiz dan Zieger, 2002). Berdasarkan data tersebut, diduga

fitoakelatin dan metalotionin belum sepenuhnya diproduksi oleh ketiga jenis tunas tersebut. Hal ini tampak bahwa ketiga jenis tunas tidak mampu menyerap Cd.

KESIMPULAN

Semua jenis tunas *Scoparia dulcis*, *Lindernia anagalis* dan *Lindernia ciliata* mampu menyerap logam berat Cr dan Pb kecuali *Scoparia dulcis* yang tidak menyerap Pb. Semua jenis tunas tidak mampu menyerap logam Cd.

DAFTAR PUSTAKA

- Puspitasari, A dan Santosa, D, 2003, Budidaya *invitro* Beberapa Jenis Tumbuhan Anggota Suku Scrophulariaceae yang Mengandung Glikosida Jantung, *MOT*, Vol. 8, No. 23.
- Gautama, 2007, Bakteri *Thiobacillus Ferrooxidans* Sebagai Penanganan Limbah Pertambangan (Batu Bara). <http://.bioindustri.blogspot.com/2008/09/bakteri-thiobacillus-ferrooxidans.html>, 2 Maret 2012.
- Chen, Yehua, 2004, The use of Vetiver grass (*Vetiveria zizanioides*) in the phytoremediation of soils contaminated with heavy metals, *Applied geochemistry* A.;19 (10): 1553-1565.
- Madjid, A dan Novriani. 2009. Peran dan Prospek Mikoriza. <http://phospateindo.com/peran-dan-prospek-mikoriza.html>, 2 Maret 2012.
- Taiz, L. & E. Zieger, 2002, *Plant Physiology*, 2nd Ed., Sinauer Associates Inc., Publishers Massachusetts.
- Triatmojo, S., 2000, Kandungan krom kacang tanah yang dipupuk kompos yang mengandung kromosal, *Buletin Peternakan*, 24: 118-125.
- Truong, P., 2000. Vetiver grass technology for environmental protection. *The 2nd Int. Vetiver Conf.: Vetiver and the Environment. Cha Am, Thailand*, 1 Maret 2012.